Lane Medical Library

Aus der Universitäts-Poliklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten zu Königsberg i. Pr.
Direktor: Prof. Dr. Scholtz.

STANFORD UNIVERSITY LIBRARY JUL 23 1917

Über die Kultur der Spirochäta pallida.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Universität zu Königsberg i. Pr.

vorgelegt von

Paul Wienert
aus Noßberg.

Königsberg i. Pr.
Gedruckt in der Ostpreußischen Druckerei und Verlagsanstalt A.-G.
1913.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Albertus-Universität zu Königsberg i. Pr.

Referent: Prof. Dr. Scholtz.

Über Kulturverfahren bei der Spirochäte pallida.

Schon von jeher hat sich die medizinische Forschung mit der Ergründung der Syphilis beschäftigt, ohne daß sie es dabei weiter gebracht hat, als ihr klinisches Bild genau festzustellen, und sie durch Mittel zu bekämpfen, die die Erfahrung sie gelehrt hat. Erst im Jahre 1905 ist es Schaudinn[1]) in gemeinsamer Arbeit mit E. Hoffmann gelungen, Licht auch in diese Erkrankung zu bringen und durch Aufklärung ihrer Ätiologie mehr denn je ihre Bekämpfung prophylaktisch und therapeutisch mit Erfolg durchzuführen. Auf Veranlassung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes untersuchten diese Forscher eine große Zahl von Erkrankungen, teils rein syphilitische — teils syphilitische, die noch mit einer anderen Erkrankung vergesellschaftet waren, und schließlich solche, die nicht luetischer Natur waren. Hierbei kamen sie zu dem Resultat, daß eine Spirochäte, die nach ihrer Ansicht zum Stamme der Protozoen gehört, der Erreger der Syphilis sei. Es gelang ihnen nämlich, diese Spirochäte sowohl in luetischen Papeln, und zwar sowohl in der Tiefe des Gewebes, als auch in dem durch Punktion gewonnenen Gewebssaft luetisch erkrankter Leistendrüsen nachzuweisen, während in nicht-

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. XXII.

syphilitischen Affektionen die gleichen Spirochäten nie zu finden waren. Die betreffenden Spirochäten zeichneten sich durch große Zartheit und sehr geringes Lichtbrechungsvermögen aus und wurden daher von Schaudinn als Spirochäta pallida bezeichnet.

Schon in ihrer ersten Arbeit machten die genannten beiden Autoren darauf aufmerksam, daß in vielen syphilitischen Efflorescenzen, besonders in nässenden Papeln, Primäraffekten und Plaques neben der Spirochäte pallida noch andere Spirochäten vorhanden waren, welche sich von dieser durch grobe Form, starkes Lichtbrechungsvermögen und lebhaftere Bewegung, bei Giemsa-Färbung auch durch einen mehr bläulichen Farbenton, unterschieden. Diese letzten Spirochäten, die häufig auch in nicht luetischen Affektionen, in schmutzigen Haut-Erosionen und besonders in spitzen Condylomen gefunden wurden, wurden von Schaudinn als Spirochäta refringens bezeichnet. Da sich aber die Spirochäte pallida zunächst nur in erodierten luetischen Efflorescenzen und allenfalls noch in den zugehörigen Lymphdrüsen nachweisen ließ, in geschlossenen Papeln, im Blute und den inneren Organen der Nachweis zunächst nicht gelang, so wurde gerade durch das Vorkommen der Spirochäte refringens und einiger anderer der Pallida sehr ähnlichen Spirochäten (Pseudopallida) sowohl in syphilitischen Efflorescenzen als auch in verschiedenen anderen Hautaffektionen die Beweisführung für die ätiologische Rolle der Spirochäta pallida sehr erschwert. Auch die später Volpino und Bertarelli sowie Levaditi geglückte Darstellung der Spirochäta pallida in den inneren Organen hereditär luetischer Kinder und in luetischen Haut-Efflorescenzen vermochten noch nicht allen Zweifel an der ätiologischen Rolle der Spirochäta pallida zu beseitigen, zumal die durch die Bertarelli-Levaditische Silbermethode sichtbar gemachten

Spirochäten nicht unerhebliche Abweichungen in der Form gegen die Spirochäta pallida im Giemsa-Präparat zeigten und von manchen Autoren direkt als Kunstprodukte angesprochen wurden. So war es dann doppelt wichtig, den Forderungen Kochs entsprechend, durch künstliche Züchtung der Spirochäte pallida und Übertragung von Reinkulturen auf Tiere allen Zweifel an der ätiologischen Rolle der Pallida zu beseitigen. Die Versuche, die in dieser Hinsicht von Schaudinn selbst gemacht wurden, hatten negativen Erfolg.

Die ersten Erfolge auf dem Gebiete der Spirochätenkulturen überhaupt hat Mühlens[2]) zu verzeichnen, dem es gelang, die Spirochäta dentium zu züchten. Die Kultur dieser Spirochäte hat im Nährboden, Wachstum und in der Fortpflanzung soviel Gemeinsames mit der der Pallida, daß die Arbeit von Mühlens das Fundament geworden ist, auf dem alle späteren Arbeiten über Spirochätenkulturen fußen. Der Nährboden, den Mühlens für die Kultur der Spirochäta dentium benutzte, wurde zuerst von Ellermann bei fusiformen Bazillen mit gutem Erfolge angewandt. Er wurde derart zubereitet, daß man ein Röhrchen zur Hälfte gefüllt mit schwach alkalischem oder besser noch mit neutralem Agar eine halbe Stunde lang im Wasserbad kochen ließ, in einem anderen Wasserbad hielt man P f e r d e s e r u m bei 48 bis 60 Grad bereit. Beide wurden sodann schnell auf 45 Grad abgekühlt und im Verhältnis 2 Agar zu 1 Serum gemischt und weiter bis auf 40 Grad abgekühlt. Hierauf wurde der noch flüssige Nährboden mit einer Sekretverdünnung beschickt, die man vorher in Serumbouillon mit dem Ausgangsmaterial hergestellt hatte. Mit derselben Nadel legte man sodann noch in anderen

[2]) Zeitschrift für Hygiene 1906 Bd. 55.

Serum-Agar-Röhrchen Kulturen an. Nach der Beimpfung wurden die Röhrchen kräftig geschüttelt, schnell in Wasser auf 37 Grad abgekühlt, erstarrt und in dem Brutschrank bei 37 Grad aufbewahrt. Das Serum gewann Mühlens in der Weise, daß er mit einer Lanzette steril einem Pferde aus der Halsvene Blut entnahm oder es einfach beim Schlachten auffing und dann nachträglich sterilisierte, indem er es mit Chloroform versetzt mehrere Tage im Eisschrank stehen ließ und dann einige Tage hintereinander stundenlang auf 58 bis 60 Grad erhitzte. Die Brauchbarkeit des Serums litt durchaus nicht dadurch, daß es vorher im Eisschrank aufbewahrt wurde, auch nicht durch die Erhitzung; im Gegenteil, es wuchsen die Spirochäten auf Nährboden, der vorher erhitzt worden war, besser wie auf solchem, der nicht durch Hitze sterilisiert war. — Auch konnte Mühlens bei dieser Kultivierung der Zahnspirochäte beobachten, daß sie nicht nur auf Pferdeserum-Agar gedieh, sondern auch auf Ascitis-Agar, wenngleich diese Kulturen nicht immer glückten. Desgleichen gelang die Kultivierung seiner Spirochäte bei Zusatz anderer Serumarten, so in Hammel-, Kalbs-, Kaninchen- und Ziegenserum-Agar.

Bei der Beschreibung seiner Kulturen sagt er, daß seine Spirochäte gewöhnlich in der Zeit vom achten bis zehnten Tage, in späteren Generationen früher, als hauchige, weißliche Trübung gewachsen seien. Diese Kolonien seien so zart gewesen, daß man sie leicht im Nährboden bei durchfallendem Licht übersehen konnte und am besten beobachtete, wenn man das Gläschen gegen eine graue Wand, die Zimmerdecke oder auch gegen den Fußboden hielt. Wurden die Kolonien größer, so zeigten sie in der Mitte oft einen gelblichen Kern. Die Größe der Kolonien beträgt ½ bis 5 mm, sie zeigen eine gewisse Ähnlichkeit mit Kolonien der

Mäuseseptikämie und des Schweinerotlaufes. Bei Anlegen von Stichkulturen trübt sich der Einstich wolkig, mitunter, wenn weniger Material vorhanden war, perlschnurartig. Nach dem sechsten Tage trübt sich der Nährboden in toto und strömt einen stark stinkenden Geruch aus, ohne daß die Kultur dabei verflüssigt wird. Er führt diese Trübung des Nährbodens unter üblem Geruch auf dessen faulige Zersetzung zurück.

Das Wachstum der Spirochäten war streng anaërob, sie wuchsen erst ca. 1 cm unterhalb der Oberfläche des Nährbodens. Aus letztem Grunde überschichtete er daher zweckmäßig den Nährboden nach der Beschickung mit Serum-Agar. — Mühlens kommt zu dem Resultat, daß die Spirochäte dentium für ihr Wachstum streng anaërobe Kultivierung und einen Nährboden verlange, dem tierisches Eiweiß zugesetzt sei. In Serum-Bouillon gelang dagegen die Reinkultur niemals, selbst wenn streng anaërobe Bedingungen eingehalten wurden und mittels des Kippschen Apparates Wasserstoffgas durch den Nährboden geleitet und dieser selbst längere Zeit auf 60 Grad erhitzt wurde. Dagegen wuchsen die Spirochäten gleich anderen anaëroben Bakterien auch in Serum-Bouillon, wenn man den Nährboden gleichzeitig mit beliebigen aëroben Keimen beimpfte. Es entstehen dann Mischkulturen, wobei die aëroben dem Nährboden den Sauerstoff so vollständig entziehen, daß dann auch die anaëroben Bakterien zu gedeihen vermögen. Irgend eine Tierpathogenität konnte Mühlens trotz vieler Versuche aus seinen Kulturen zunächst nicht erzielen. Später[3]) machte Mühlens auch zahlreiche Versuche, die Pallida zu züchten; alle diese Versuche verliefen aber ergebnislos, obwohl er seinen Dentium-Nährboden auf die mannigfachste Weise für die

[3]) Mühlens, Zentralblatt für Bakteriologie 1908 Seite 487.

Pallida modifizierte. Keinen Erfolg sah er auch bei dem Verfahren nach Levaditi, das später, wohl wegen seiner Umständlichkeit, vollständig fallen gelassen wurde. Levaditi[4]), der zur selben Zeit wie Mühlens seine Versuche machte, hatte Kollodiumsäckchen mit inaktiviertem Menschenserum angefüllt, diese mit syphilitischem Material beschickt und im Bauche von lebenden Kaninchen und Affen versenkt. Gleichzeitig impfte er diese Tiere an den Augenbrauen und holte, wenn dort der Primäraffekt anging, das Kollodiumsäckchen mit seiner Kultur wieder aus dem Bauche heraus. Auf diese Weise will er zuweilen eine Anreicherung in Mischkultur beobachtet haben.

Auf demselben Serum-Agar-Nährboden wie Mühlens legte auch Schereschewski[5]) seine ersten Pallida-Kulturen an. Dieselben waren trotz massenhafter Versuche alle negativ; eins allerdings beobachtete Schereschewski schon damals, daß nämlich reiner Serumnährboden besser für das Gedeihen der Pallida zu sein schien als Nährboden von Serum-Agar. Und in der Tat, schon im nächsten Jahre konnte Schereschewski in einer vorläufigen Mitteilung[6]) veröffentlichen, daß es ihm gelungen sei, die Pallida auf reinem Pferdeserum zu züchten. Er verfuhr dabei derart, daß er sterile Zentrifugenröhrchen zwei Drittel mit Pferdeserum anfüllte, dasselbe durch Erhitzen auf 60 Grad gallertartig erstarrte und sich dann drei Tage hindurch bei einer Temperatur von 37 Grad einer teilweisen Autolyse unterwerfen ließ. In diesem Nährboden versenkte er Papeln- und Kondylomstücke von Syphilitikern. Es gelang ihm auf diese Weise, eine

[4]) Ann. de l'Inst. Pasteur T. XXI 107.

[5]) Zentralblatt für Bakteriologie 1908 Bd. 47.

[6]) Schereschewski, Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1909 Seite 835.

Vermehrung von Spirochäten zu gewinnen, die im Dunkelfeld und bei Färbung der Pallida glichen. Eine Reinkultur glückte ihm zunächst nicht; ebenso wenig gelang es ihm, seine Pallida-Mischkulturen mit Erfolg auf Affen zu verimpfen. Dieser Mangel an Tierpathogenität führte dazu, daß die Schereschewskischen Kulturen der Spirochäte pallida wenig Anerkennung fanden, und besonders Uhlenhut, E. Hoffmann und andere diese avirulenten Kulturen nicht als Kulturen der Pallida gelten lassen wollten. Diese Zweifel waren um so naheliegender, als auch die Form und das Aussehen der Schereschewskischen Kulturspirochäte im Giemsa-Präparat und bei Dunkelfeldbeleuchtung gewisse Abweichungen von den Formen der Pallida in Sekretpräparaten erkennen ließ.

Im Anschluß an die Arbeit Schereschewskis demonstrierte Arnheim[7]) in der Berliner. Medizinischen Gesellschaft die von jenem gezüchtete Spirochäte. Er ließ es dabei fraglich erscheinen, ob es sich bei den Schereschewskischen Kulturen um eine wirkliche Anreicherung handelt, und ob diese Kulturspirochäte die Pallida sei.

Schereschewski[8]) selbst hingegen hielt an der Identität seiner Kulturspirochäte mit der Pallida auch weiterhin fest; in einer längeren Arbeit schildert er eingehend sein Kulturverfahren und die durch dasselbe gewonnene Spirochäte. Es gelang ihm nicht nur aus Kondylomen, Papeln und Primäraffekten Kulturen zu erzielen, sondern auch aus Drüsen, Milz und aus Blut, das er aus der Tiefe eines breiten Kondylomes mit einer Kapillarpipette aufsaugte. Gelangten mit dem Impfobjekt gleichzeitig Luftblasen in den Nährboden, so entfernte er dieselben durch Aufstoßen mit

7) Referat Deutsch-Mediz. Wochenschrift 1909 Seite 1169.

8) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1909 Seite 1260.

dem Gläschen. Schon nach drei, spätestens fünf bis zwölf Tagen konnte er Wachstum beobachten. Die Kulturen rochen stark nach Schwefelwasserstoff, dessen Retention er für das Wachstum der Kultur für nötig hielt. Die mikroskopische Untersuchung seiner Spirochäte nahm er entweder im Dunkelfeld vor, wozu er das Untersuchungsmaterial mit 0,85prozentiger Kochsalzlösung verdünnte, oder aber auch in einer von ihm selbst angegebenen Färbemethode folgender Art:

Er fixierte das ausgestrichene Präparat über 1 Prozent Osmiumdämpfen und trocknete es an der Luft bei 37 Grad oder auch vorsichtig über der Flamme. Sodann erhitzte er 10 Kubikzentimeter einer 0,5prozentigen Glyzerinlösung mit 10 Tropfen Giemsa bis zum Sieden, wobei auf dem Präparat jedoch keine Niederschläge entstehen durften. Diese siedende Lösung blieb 2 Minuten auf dem Präparat, dann spülte er es kräftig ab und wiederholte dieselbe Färbung noch einmal. Bei diesem Verfahren färbte sich die Pallida blaßrot.

Bei der Weiterverimpfung verfuhr er so, daß er in Kapillaren das Impfmaterial auf den Grund des neuen Nährbodens brachte. Er konnte bei seinen Kulturen beobachten, daß in späteren Generationen eine stärkere Anreicherung stattfand, als in den ersten, und die anderen Bakterien dadurch in den Hintergrund gedrängt wurden. Auch nahm er wahr, daß je älter die Generation war, desto mehr die gezüchteten Spirochäten der Pallida glichen, während sie bei der ersten Überimpfung immer an den Refringenstyp erinnerten. Diese Tatsache glaubte er nun so erklären zu müssen, daß im Anfange die eine Art vorherrschte und in späterer Generation durch die andere zurückgedrängt würde, oder aber, daß die Refringens in der Kultur in Pallida umgewandelt würde. Ebenso wie Mühlens und Hartmann von der Zahnspirochäte, konnte er auch von

der kultivierten Pallida beobachten, daß sie in Form und Zahl der Windungen, in Beweglichkeit und Stärke außerordentlich variabel war. Die Beweglichkeit insbesondere war viel weniger lebhaft, wie die der Gewebepallida. Tierversuche mit der gezüchteten Spirochäte blieben, wie gesagt, ergebnislos, hingegen glaubte er positive Resultate mit seiner Kultur als Antigen bei der Wassermannschen Reaktion zu haben.

Gleichzeitig mit dieser Veröffentlichung von Schereschewski erscheint eine vorläufige Mitteilung[9]) von Mühlens, die besagt, daß es ihm gelungen sei, die Pallida durch seine Schüttelmethode rein zu züchten. Auch habe er mit seiner Reinkultur bereits Tierversuche angestellt.

Lediglich dem Identitätsnachweis gilt die nächste Arbeit Schereschewskis[10]). Was insbesondere seine Tierversuche anbetraf, so impfte er 26 Affen und Kaninchen, erstere an Augenbrauen und Penis, letztere in die Testes und die Kornea ohne Erfolg. Jedoch verhielten sich zwei von den so geimpften Affen, desgleichen zwei Kaninchen zwei Monate hindurch gegen jede Impfung mit luetischem Material aus Primäraffekt und sekundären Erscheinungen refraktär, während bei den Kontrollkaninchen positive Resultate zu verzeichnen waren. Für die fehlende Tierpathogenität kann Schereschewski nur zwei Möglichkeiten finden; entweder die Pallida ist nicht der Erreger der Syphilis, oder aber sie wird in der Kultur avirulent, was Todd ja auch von der Spirochäte Duttoni behauptet.

Weiter machte Schereschewski noch einige biologische Versuche, um die Identität seiner Kultur-

---

9) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1909 Seite 1260.

10) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1909 Seite 1652.

spirochäte nachzuweisen. Agglutination der Spirochäte durch das Serum luetischer Patienten fiel negativ aus. Aus seinen Präzipitationsversuchen, die zum Teil ein positives Resultat ergaben, wagt Schereschewski keinen sicheren Schluß zu ziehen, da bekanntermaßen im Serum luetischer auch bei Vermischung mit nichtspezifischen Substanzen bisweilen leichte Niederschläge auftreten. Kutanimpfungen mit Kulturextrakt ergab kein verwertbares Resultat.

Arnheim,[11]) der, wie schon bemerkt, auf einer Sitzung der Berliner Medizinischen Gesellschaft Schereschewskis Kultur angezweifelt hatte, veröffentlicht jetzt eine längere Arbeit, in der er zunächst die Vorteile hervorhebt, die eine Reinklutur der Pallida für die Syphilisforschung haben würde. Schereschewskis Versuche hat er nachgeprüft und hegt daraufhin starken Zweifel an der Identität der Kulturspirochäte jenes mit der Gewebepallida. Zunächst stellt er es in Frage, ob es sich überhaupt um eine Anreicherung der Spirochäte in der Kultur handele, und sagt, daß die Vermehrung wahrscheinlich nur eine scheinbare sei. In dem Impfstück waren eben zahlreiche Spirochäten durch das feste Gewebe auf ein kleines Gebiet zusammengedrängt. Durch die Marzeration des Stückes wurden diese frei und verteilten sich auf größere Flächen des Nährbodens, so daß es sich nicht um neue, sondern um die alte verimpfte Gewebsspirochäte handele.

Auch seien die in dem Röhrchen gefundenen Spirochäten kaum Pallidae gewesen, mehr Wahrscheinlichkeit habe es für sich, daß es sich um die Refringens gehandelt habe, die ja im normalen Präputialsekret immer vorhanden wäre und zusammen mit der Pallida in den Kulturboden gekommen wäre.

[11]) Arnheim, D. C. 190.

Was vor ihm Schereschewski beobachtet hatte, konnte er auch beobachten, daß nämlich die Spirochäte in der Kultur außerordentlich variabel war in der Gestalt, daß sie andere Bewegungen hatte, und daß sie sich anders färbte. Jene hatten diese Beobachtung einfach damit erklärt, daß sie sagten, die Kulturpallida verhalte sich eben anders wie die Gewebspallida; A. glaubt, es läge viel näher, diese Tatsachen einfach darauf zurückzuführen, daß es sich, wie oben gesagt, nicht um die Pallida, sondern um die Refringens gehandelt habe. Seine eigenen Kulturresultate waren die, daß er in zwei Fällen von kongenitaler Lues zweimal vergebens auf Pferdeserum verimpfte, in acht Fällen von frischer Lues gelang es ihm zweimal eine Anreicherung in der Kultur zu erzielen.

Im folgenden Jahre schrieb M ü h l e n s [12]), daß er die Spirochäte pallida in Reinkulter gezüchtet habe, nach demselben Verfahren, wie er es bei der dentium angewendet hatte. Er exstirpierte eine luetische Leistendrüse und erzielte zunächst aus ihr durch das Schüttelverfahren in vier Generationen Mischkulturen. In der fünften Generation stieß er zufällig auf eine isolierte Kolonie, die nur Pallida enthielt, und die er nun sofort durch Stichkultur auf Pferdeserum-Agar in hoher Schicht weiterverimpfte. Von diesem einen Stamm hat er seine sämtlichen Reinkulturen gezüchtet, einen anderen zu erhalten glückte ihm nicht, obwohl er ca. 3000 Schüttelkulturen anlegte. Auch war die Weiterzüchtung in Reinkultur recht schwierig, denn obwohl er gewöhnlich 40 bis 50 Röhrchen beimpfte, ging doch oft nur ein einziges an.

Auch seine Versuche, die Spirochäte auf Platten von Serum-Agar und in flüssiger Bouillon anaërob nach dem Lentzschen Verfahren zu züchten, mißlangen

[12]) Klinisches Jahrbuch 1910 Nr. 23.

bis auf einen Fall, wo sich ein anderes Bakterium außerdem noch in der Kultur fand, das offenbar stark sauerstoffbedürftig war. Dieses Bakterium konnte er isolieren, und nun glückten ihm auch flüssige Spirochätenkulturen, sobald er ihnen dieses Bakterium zusetzte. Den Grund hierfür sucht er darin zu finden, daß letzteres, wie gesagt, viel Sauerstoff nötig habe, und ihn daher den Spirochäten entziehe oder auch darin, daß seine Stoffwechselprodukte den Spirochäten die nötigen Lebensbedingungen geben. Dadurch, daß diese Mischkulturen nicht nur in Pferdeserum-Bouillon, sondern auch in reiner Bouillon gelangen, liefert er den Beweis, daß Pferdeserum für das Wachstum der Spirochäten nicht unbedingt erforderlich sei.

Außer bei diesen Zusatzbakterien gelangen ihm die Kulturen auch bei zwei anderen aëroben Bakterien, insbesondere einer bestimmten Kokkenart, die er allerdings nicht näher angibt. Versuche mit einigen anderen Bakterien, so z. B. mit Heubazillus, mit Kartoffelbazillus und anderen mißlangen. Die Versuche mit den Zusatzbakterien stellte er so an, daß er möglichst reinluetisches Kaninchenmaterial in Serum-Agar-Röhrchen verimpfte und dazu sein Zusatzbakterium setzte, seine erste derartige Kultur war nicht ganz einwandfrei, da er dabei das Bakterium aus einer Spirochäten-Serum-Bouillonkultur entnahm, und demnach nicht angeben konnte, ob er die Spirochäte nicht zusammen mit den Bakterien mit in den neuen Nährboden hinübergenommen hatte. Auffällig war es, daß mit diesen Zusatzbakterien die Spirochäten gerade an der Oberfläche gediehen, also da, wo ersteres am stärksten wuchs. Ferner gingen eine Reihe Serum-Agarröhrchen, die mit Reinkulturspirochäten vor zehn Tagen beimpft waren, nicht an; als er aber nach zehn Tagen sein Zusatzbakterium hinzupflanzte, wuchsen auch die Spirochäten. Ein deutlicher Beweis dafür,

daß die Spirochäten erst durch das Zusatzbakterium die ihnen günstigen Entwicklungsbedingungen gefunden hatten.

Was nun das Wachstum seiner Mischkulturen anbelangt, so fand er sie ebenso wie Schereschewski, nur fügte er noch hinzu, daß seine Kulturen sich sehr oft verflüssigten, und daß ihm dieselben nur dann gelangen, wenn er in den Nährboden ein Stückchen Gewebe mit hineinpflanzte, hingegen nicht, wenn er bloßes Reizserum in den Nährboden impfte.

Seine Reinkulturen, die er mittlerweile bis zur 32. Generation weiterverimpft hatte, schilderte er folgendermaßen: Das Wachstum der Kultur beginnt am dritten bis siebenten Tage derart, daß im hellgelben Serum winzig hauchige Pünktchen erscheinen, die sich später zu wolkigen, mitunter sehr zarten, mitunter aber auch recht üppigen Kolonien auswachsen. Sie gedeihen nur in dem unteren Zweidrittel des Nährbodens, also streng anaërob. Die Kulturen sehen genau so aus, wie die der Spirochäte dentium. Die Weiterverimpfung besorgt er am besten am siebenten bis zehnten Tage, spätere Verimpfungen hatten ungünstige Resultate, wenngleich auch Weiterverimpfungen noch am 30. bis 50. Tage gelangen. Um an die Kolonien zu gelangen, schlug er das Röhrchen entzwei und zerschnitt auf sterilen Petrischälchen den Nährboden, und impfte die nun freiliegenden Kolonien mit der Platinnadel in Stichkultur auf Serum-Agar fort.

Was die Zubereitung seines Nährbodens anbetraf, so ließ er dabei jetzt eine kleine Änderung insofern eintreten, als er ihn vor der Beimpfung 24 bis 48 Stunden im Brutschrank bei 37 Grad aufbewahrte; letzteres sollte das Wachstum der Spirochäte begünstigen.

Das morphologische Aussehen seiner Kulturspirochäte entsprach in vielen Stücken dem Bilde, wie es Schereschewski von seiner Spirochäte gegeben hatte.

Allerdings stellte er auch einiges fest, was jener in seinen Kulturen nicht, resp. anders gesehen hatte. Mit Schereschewski fand er, daß die Spirochäte pallida aus der Kultur durchaus nicht das einheitliche Bild biete, wie man es von der Gewebepallida gewohnt war. Sie war vielmehr außerordentlich variabel, so daß man oft nicht sicher entscheiden konnte, wohin sie gehörte, sie hatte bis 20 Windungen, war im allgemeinen wenig beweglich, während sie in Bouillonkulturen mehr Bewegung zeigte, was er auch von der Refringens in flüssiger Kultur beobachten konnte. Allerdings ließen in flüssiger Kultur die Bewegungen sehr schnell nach. Überhaupt wiesen die Spirochäten in flüssiger Kultur viel mehr Ähnlichkeit mit der Gewebepallida auf, man konnte die für die Pallida typischen Roll-, Dreh- und Knickbewegungen erkennen, die Gestalt war regelmäßiger und zarter, kurz es ließ sich fast kein Unterschied finden zwischen dieser Kultur und der Gewebepallida. Im Gegensatz zu Schereschewski beobachtete er, daß die Kulturen in den ersten Generationen viel Ähnlichkeit mit Refringens hatten, in späteren sich mehr der Pallida näherten, während Schereschewski gerade das Umgekehrte beobachten konnte. Er erklärte dieses Verhalten der Spirochäten in der Kultur damit, daß eben ursprünglich beide Arten in der Kultur vorhanden seien, und daß die eine die andere überwuchere; nicht hingegen glaubt er, daß die eine in die andere umgewandelt würde.

T e i l u n g s e r s c h e i n u n g e n konnte er nicht beobachten, es schien ihm jedoch manches darauf hinzudeuten, so insbesondere auch die feinen Verbindungsbrücken zwischen je zwei Spirochäten. Mit Sicherheit indes konnte er nicht feststellen, ob die Vermehrung durch Längs- oder Querteilung vor sich gehe.

Besonders Abweichungen in der Form und Gestalt zeigte die Spirochäte im gefärbten Präparate, und

man vermißte hier sehr oft die charakteristischen Zeichen der Pallida; indes führte er dies darauf zurück, daß im Farbepräparat viel weniger wie im Dunkelfeld ein getreues Bild von der Pallida gegeben würde. Hier hätten die Art des Fixierens, das Alter der Kultur, ob sie lebend oder tot sei, in welchem Medium sie gefärbt würde, endlich die Art des Farbstoffes selbst einen bedeutenden Einfluß auf ihr Aussehen. Auffallend kleine Formen fanden sich bei der Schereschewskischen Schnellfärbemethode, was er auf die Präparation zurückführt.

Richtige Geißeln sah Mühlens bei seiner Spirochäte nie, hingegen öfters geißelartige Endfäden, die er besonders häufig bei den kleinen Formen, die nach Schereschewski gefärbt worden waren, beobachtete, diese zeigten auch bisweilen an Stelle der Fäden kugliche Anschwellungen an den Enden. Letzten Befund kann er sich nicht erklären, er versuchte ihn dahin zu deuten, daß es sich vielleicht um Degenerations- vielleicht auch um Entwicklungsvorgänge handele.

Die Darstellung der Geißeln oder vielmehr der Endfäden bei seiner Kulturpallida nahm Zettnow vor; dieser ging dabei folgendermaßen vor: Er zentrifugierte die spirochätenhaltige Kulturflüssigkeit, von dem dadurch entstandenen Absatz nahm er eine Spur und verteilte sie in einen Tropfen Wasser. Von dieser Verdünnung nahm er eine Öse voll und übertrug sie in einen zweiten Tropfen Wasser, das mit Osmiumtetroxyd versetzt war; von diesem fertigte er Ausstrichpräparate an.

Im allgemeinen fand Zettnow diese geißelartigen Endfäden sehr selten, auch schließt er aus, daß diese Kunstprodukte hervorgerufen seien durch die vorhergegangene Behandlung der Kultur. Er konnte keine Exemplare beobachten, an die sich abgerissene Geißeln

des Zusatzbakteriums anlagerten, wie das früher behauptet worden war. Überhaupt war das Zusatzbakterium in diesen Kulturen sehr wenig vorhanden, und noch viel weniger konnte man bei ihm Geißeln beobachten.

Eingehend befaßt er sich sodann mit Levaditi und Stanesco, die gleichfalls zwei Spirochätenarten kultiviert hätten, beide aber nicht für Pallida hielten und ihnen daher eigene Namen gegeben hatten, Spir. gracilis und balaniditis. Die erstere, die Gracilis, hätten sie oft in hypertrophischen Plaques, in Schankern sowie bei Balanitidis erosiva gefunden und von dort aus gezüchtet; sie sei sehr ähnlich der Pallida, habe acht bis zwölf Windungen, sei auch zart, indes doch dicker und unregelmäßiger wie jene und habe keine Endfäden und färbe sich leichter nach Giemsa. Die zweite Art hätte Endfäden, ihre Windungen wären flacher und größer.

Mühlens hält es zwar für möglich, daß die Auffassung der genannten Autoren zutrifft, daß es sich tatsächlich um andere Spirochäten wie die Pallida handele, gibt aber zu erwägen, daß sich die Kultur-Spirochäten in ihrem Aussehen anders verhalten wie die Gewebe-Spirochäten und auf dem künstlichen Nährboden nicht unwesentlich verändert würde.

Seine Tierversuche waren sämtlich von negativen Erfolgen, er konnte bei keinem von den vielen geimpften Kaninchen und Affen eine spezifisch syphilitische Erkrankung nachweisen.

Mehr Erfolge hatte er bei seinen Komplementbildungsversuchen bei Kaninchen und Affen, wenngleich auch diese keine einwandsfreien Resultate ergaben. Er untersuchte 28 Affen und 12 Kaninchen auf die Wassermannsche Reaktion; von den 28 Affen gaben 22 Hemmungen, obgleich sie nicht irgendwie luetisch infiziert waren, desgleichen hemmten alle 12

normalen Kaninchen, die er daher von den weiteren Untersuchungen ausschloß.

Die sechs Affen, von den 28, die keine Hemmung ergeben hatten, injizierte er jetzt mit Kulturextrakt subkutan, und untersuchte wiederum das Blut auf Wassermannsche Reaktion; jetzt hemmten auch diese. Dieser Versuch, der auf den ersten Blick sehr überzeugend wirkte, konnte jedoch auch nicht als genügender Beweis für die spezifische Wirkung der Kultur-Spirochäte angesehen werden; sollte er wirklich als ein Beweis für die Identität der Kultur-Spirochäte mit der Spirochäte pallida angesehen werden, so hätte festgestellt werden müssen, ob dieselben Affen manchmal nicht einen negativen und ein andermal einen positiven Wassermann hätten, oder aber, ob nicht noch andere Bakterienkulturen-Injektionen Hemmung des Serums veranlassen.

Aus seinen Untersuchungen kommt Mühlens zu folgendem Schlusse: Für die Identität seiner Kultur-Spirochäte mit der Gewebepallida spricht die morphologische Übereinstimmung, namentlich die der lebenden Spirochäte. Einer Verwechselung mit der Refringens schließt er vollkommen aus; diese läßt sich nämlich auch in der Kultur deutlich von der Pallida unterscheiden, wie man leicht aus einem Vergleich ersehen kann, den man anstellt zwischen Kulturpallida und Kultur refringens, welche Mühlens auch geglückt war. Die absoluten negativen Erfolge mit Tierpathogenität spricht noch nicht unbedingt dagegen, daß es sich bei der Kultur-Spirochäte nicht um die wirkliche Gewebe-Spirochäte handele. Im Gegensatz zu Schereschewski nimmt er an, daß die Spirochäte in der Kultur avirulent geworden ist, wie ja auch Trypanosemen, Schweinerotlauf und die Spirochäta Duttoni in der Kultur ihre Tierpathogenität einbüßen. Auch läßt der oben erwähnte Ausfall bei den sechs injizierten Affen

und insbesondere auch die Tatsache, daß es Mühlens gelang, aus Kulturextrakt Antigen herzustellen, das in der Dosis von 0,1 bis 0,4 stets brauchbar war, immerhin eine Identität seiner Kultur-Spirochäte mit der Gewebepallida mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen.

Auf der Naturforscherversammlung in Königsberg[13]) im Jahre 1910 ergreift Schereschewski wiederum das Wort in dieser Frage. Er faßt dabei zunächst in knapper Form zusammen, was bis dahin von ihm und anderen Autoren über die Kultur der Spirochäta pallida gesagt worden ist, ergänzt es durch die neuesten Beobachtungen und legt vor allem präzise und klar dar, was auf diesem Gebiete bereits erreicht ist und was man von weiteren Forschungen erhoffen darf.

Daß es sich in den Kulturen tatsächlich um die Pallida handelt, dafür spricht nach Schereschewski soviel, daß er daran gar nicht zweifeln könne. Eine Reinkultur sei bis jetzt nur Mühlens geglückt, indes sei auch dessen Serum-Agar-Schüttelmethode sicher nicht das richtige Verfahren. Schon Mühlens ist es trotz 3000 weiterer Versuche nicht mehr geglückt, eine andere Reinkultur zu erzielen, und er selbst hat ungezählte Versuche mit diesem Nährboden gemacht, aber sämtliche ohne Erfolg. Der Grund hierfür liegt wohl darin, daß die Spirochäte, die in Pferdeserum gut gedeiht, den Zusatz von Agar nicht vertragen kann — eine Beobachtung, die zwei andere anwesende Autoren, Grouven und Sowade, bestätigen. — Außer dem Mangel einer Reinkultur fehlt vor allem noch die Tierpathogenität, die von allen drei Autoren, die bis jetzt auf dem Gebiete gearbeitet haben, Mühlens-

---

[13]) Bericht in Berliner Klinischen Wochenschrift 1910 Seite 1926.

Levaditi und Schereschewski selber, nicht erzielt werden konnte. Als Grund hierfür kämen drei Dinge in Betracht:

1. die gezüchtete Spirochäte ist nicht die Pallida,
2. die Pallida ist nicht der Erreger der Syphilis,
3. die Spirochäte pallida hat in der Kultur ihre Virulenz verloren.

Während Schereschewski früher zu der Annahme neigte, daß die Spirochäte vielleicht doch nicht der Erreger der Syphilis wäre, stellt er sich jetzt auf den bereits von Mühlens eingenommenen Standpunkt, daß sie in der Kultur ihre Virulenz verloren habe. Im übrigen zweifelt er die Reinkultur Mühlens' an, ohne es direkt auszusprechen.

Einen neuen Gesichtspunkt in der Kulturmethode der Spirochäta pallida brachte im nächsten Jahre eine Arbeit von Marinestabsarzt Dr. Hoffmann[14]). Er hatte zusammen mit Mühlens durch dessen Schüttelverfahren die bereits erwähnte erste Reinkultur aus dem Schankergeschwür eines Kaninchens gewonnen. Eine weitere Reinkultur gewann er sodann auch direkt von menschlichem Schanker; leider ging dieselbe bei der Weiterverimpfung nicht an, da er zu wenig Röhrchen dabei anlegte.

Nun aber ging Hoffmann nach einem bestimmten Prinzip vor. Er hatte nämlich beobachtet, daß die Spirochäte selbständig schnell in die Tiefe des Nährbodens vordringe, während die übrigen Bakterien sich nur in unmittelbarer Nähe des Stichkanals vermehrten. Diese Wahrnehmung nutzte er aus. Er impfte nicht mehr von einer beliebigen Stelle der Kultur, sondern von den Rändern, möglichst fern von dem Einstich. Dort nämlich fand er die eiligere Spirochäte fast allein vor, während die langsamen anderen Bak-

[14]) Zeitschrift für Hygiene 1911.

terien noch in der Mitte der Kultur saßen. Durch dieses Verfahren hat er auch schon eine Kultur erhalten, die nur noch sehr wenig Verunreinigung zeigt.

Ferner wuchsen ihm die Spirochäten ebenso gut auf Pferdeserum-Agar wie auf reinem Pferdeserum, was Schereschewski vorher verneint hatte. Auch hält er eine Gewöhnung der Spirochäte durch Pferdeserum nicht für nötig, um auf Pferdeserum-Agar zu wachsen.

Eine Reihe von Beobachtungen konnte auch er bei dem Zusatz von anderen Bakterien machen. Auch er sah, wie ein Zusatz von gewissen Bakterien das Gedeihen von Spirochäten bedingte, oder doch wenigstens förderte. Welche Eigenschaft dieser Zusatzbakterien den eigenartigen Einfluß auf die Spirochätenkulturen ausübte, das konnte auch er nicht bestimmen. Nach einer Seite hin machte er Versuche; da er nämlich annahm, daß vielleicht die Bakterien selber die Nahrung für die Spirochäten waren, so setzte er abgetötete Bakterien dem Kulturboden zu. Diese Versuche hatten jedoch einen negativen Erfolg.

Ferner nahm er an, daß die Pallida auch auf reinem Agar gedeihen können. Zu dieser Ansicht kam er dadurch, daß er merkte, wie in einem beimpften Röhrchen, das noch oben des Luftabschlusses wegen mit Agar übergossen worden war, gerade an der Grenze zwischen Nährboden und Überschichtungs-Agar die Spirochäten wuchsen. Er impfte daher später auf reinem Agar und erzielte damit ein gutes Wachstum. Diese Kulturen auf reinem Agar, die wie alle anderen auch Mischkulturen waren, rochen nicht, auch wurde der Nährboden nicht verflüssigt. Aus dieser Tatsache schließt er, daß der von den anderen Autoren stets genannte Schwefelwasserstoffgeruch und die Verflüssigung des Nährbodens nicht eine Eigentümlichkeit der Spirochäten waren, sondern des zersetzten

Serumnährbodens. Schließlich muß aber auch er zugeben, daß reiner Agar nicht der günstige Nährboden für die Spirochäten wäre, trotz der obigen Resultate; denn bei den Weiterverimpfungen auf Agar wuchs die Spirochäte nicht mehr, wie er annimmt, deswegen, weil die Spirochäte bei ihrer ausgesprochenen Neigung, in den Nährboden hineinzuwachsen, auf die Dauer den Widerstand des festen Agars nicht überwinden könne. Bei den Agar-Kulturen konnte er auch beobachten, daß sich die Kultur zwar nach allen Seiten ausdehnte, aber nur die Größe einer Erbse annahm; setzte er dem Agar noch Bouillon hinzu, so wurde die Kultur dünner und durchsichtiger, aber sie vergrößerte sich. Bei Kulturen, die er in der Mitte des Röhrchens angelegt hatte, sah er, daß die Spirochäten zunächst nach der Glaswand drängten und, dort angekommen, sich schnell und üppig die Glaswand entlang ausbreiteten, als hätten sie dort geeignetere Lebensbedingungen gefunden.

Versuche nach Lentz gelangen ihm nicht. Reine Gelatine war kein guter Nährboden; auf Agar, gemischt mit Gelatine und Bouillon, gediehen die Spirochäten recht gut; Zusatz von Glyzerin schädigte sie nicht.

Mit gutem Erfolge ließ sich auch an Stelle des Pferdeserums Kaninchenserum anwenden; wässerige Auszüge von tierischen Organen gaben keinen guten Nährboden ab. Gut wuchsen die Pallidae auch, wenn er in flüssigem Nährboden nach Mühlens kleine Klümpchen von zerschnittenem Pferdeserum versenkte.

In reiner Bouillon wuchsen sie nur, wenn er ihnen ein Zusatzbakterium beimengte, das er Zusatzbakterium 3 nennt und in längerer Ausführung beschreibt. Es war dieses ein plumpes dickes Stäbchen, das gelegentlich kurze Fäden bildet und im hängenden

Tropfen lebhaft beweglich ist. Geißeln konnte er bei ihm nach dem Zettnowschen Verfahren nicht feststellen. In Luftabschluß nach Lentz wuchs auch dieses Zusatzbakterium nicht; in zwei- bis dreitägigen Agar-Kulturen konnte man eine reichliche Sporenentwicklung nachweisen.

Mit gutem Erfolge wandte Hoffmann bei der Pallida ein anderes Züchtungsverfahren an, das von Martini und Knuth für Trypanosomen angegeben worden ist. Dieser Nährboden setzte sich zusammen aus Bouillon und defibriniertem Rinderblut; an Stelle des Rinderblutes konnte man auch Pferde-, Hammel- und Kaninchenblut wählen. Auch bei diesem Züchtungsverfahren erzielte er leicht Mischkulturen, an denen er außerdem noch beobachtete, daß am ersten bis zweiten Tage nach der Beschickung des Nährbodens lange Fäden in der Kultur auftraten, die aussahen, als ob sie sich aus mehreren Spirochäten zusammensetzten. In älteren Kulturen fand er diese langen Fäden nicht oder doch wenigstens sehr selten. Er nimmt an, daß diese eigentümlichen Formen sich später teilten, kann einen Beweis dafür aber nicht erbringen. Eigentümlicherweise konnte er auf diesem Nährboden kein Wachstum primär aus syphilitischem Material erzielen, trotzdem sich der Nährboden für Weiterverimpfungen sehr gut eignete. Andererseits ließen sich die in Blutbouillon gewachsenen Spirochäten auf Agar in hoher Schicht nach der früher beschriebenen Methode der Schüttelkultur gut weiterzüchten; nach diesem Verfahren erzielte er in einem Falle reine Kolonien von Pallida. Wurden Serumkulturen in Bouillon verpflanzt, so zeigten sie viel lebhaftere Bewegung; wie ihm überhaupt die Beweglichkeit der Spirochäte bei dem Übergang aus einem festen in ein flüssiges Medium zuzunehmen schien.

Im gefärbten Präparate fielen Hoffmann häufig kleine rundliche, starkgefärbte Gebilde auf, die dem Leib der Spirochäte an den Enden oder in der Mitte anhafteten; schließlich merkte er auch zwischen den einzelnen Spirochäten kleinste runde Körnchen, viel kleiner noch als Kokken, die ständig in sehr lebhafter Bewegung waren. Was diese Körnchen zu bedeuten hatten, weiß er nicht, indes glaubt er, daß sie mit den Spirochäten in irgend einem Zusammenhang ständen.

Tierpathogenität konnte Hoffmann wie alle anderen vor ihm zunächst nicht erzielen; auch er versuchte dieses negative Resultat so zu erklären, wie alle anderen Autoren vor ihm: entweder Virulenz-Einbüßung in der Kultur oder aber die Pallida ist nicht der Erreger der Syphilis. Mehr Erfolg brachte ihm die Wassermannsche Reaktion, er untersuchte das Serum von vier mit Kulturpallida geimpften niederen Affen und fand, daß ihr Serum, das vor der Einspritzung nicht gehemmt hatte, nach derselben komplette Hemmung der Hämolyse gab. Weiter verwandte Hoffmann den Extrakt seiner Kulturen als Antigen bei der Wassermannschen Reaktion und erzielte damit in Übereinstimmung mit drei anderen aus luetischer Leber gewonnenen Antigen in 47 Fällen komplette Hemmung der Hämolyse, in 10 weiteren Fällen vollkommene Lösung.

In diesen Tatsachen erblickte er einen Beweis dafür, daß bei Komplimentbindung doch das Wesentliche die Spirochäte wäre, das Nebensächliche die Lipoide, was ja auch die Annahme Wassermanns selbst sei; wenngleich er andererseits zugeben muß, daß auch andere Auszüge, z. B. aus normalem Menschenherz, aus Kaninchenherz usw., in vielen Fällen zu denselben Resultaten führten.

Hatte den Autoren bis jetzt in dem Identitätsnachweis von Kultur- und Gewebe-Pallida noch eines

der wichtigsten Momente, die Tierpathogenität der Kulturen, gefehlt, so sollten schon die nächsten Monate eine Reihe von Arbeiten bringen, die gerade nach dieser Seite hin glückliche Versuche veröffentlichten.

Die ersten, deren Arbeit mir im Original leider nicht vorliegt, waren Bruckner und Galasesko; ihnen war es schon Ende 1910 gelungen, mit Schereschewskischer Mischkultur nach 60 Tagen doppelseitige Orchitis beim Kaninchen hervorzurufen, in deren Punktat sie reichlich Spirochäten fanden.

Ausführlichere Versuche veröffentlicht sodann Sowade[15]). Er verimpfte Mischkulturen intrakardial, ein Verfahren, das Ulenhut und Mulzer erfolgreich mit Gewebepallida angewandt hatten. Aus einer seiner Kulturen, die er nur noch in reinem Pferdeserum anlegte, nicht mehr in Serum-Agar, spritzte er einen Teil Verflüssigung mit reichlichen Spirochäten einem trächtigen Kaninchen direkt ins Herz. Nach der Einspritzung warf dieses Kaninchen noch vier lebende gesunde Junge, wurde aber selbst nach drei Monaten krank. Es bekam Papeln an den Ohren, spezifischen Haarausfall, ja selbst ein serpeginöses, tuberöses Syphilid mit reichlichen Spirochäten. Nach mehrwöchentlicher Erkrankung wurde das Kaninchen wieder gesund; nachträglich aber wurden in dem Stroh noch mehrere tote Junge gefunden, die das Kaninchen damals zusammen mit den lebenden geworfen hatte, und die leider übersehen worden waren.

Hatte Sowade auf diese Weise mit Mischkulturen experimentelle Syphilis erzeugt, so fügte Noguchi[16]) kurze Zeit darauf einen weiteren Stein in den Identitätsnachweis von Kultur- und Gewebe-Spirochäten:

[15]) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1911 Seite 682.
[16]) Münchner Medizinische Wochenschrift 1911 Seite 1550.

ihm gelang es nämlich zuerst mit Reinkultur Affen syphilitisch zu infizieren. In seiner Arbeit bespricht er zunächst die Tierpathogenität bei Bruckner, Galasesco und Sowade. Weil diese Autoren nämlich nur mit der ersten Kultur, nie mit späteren Generationen Impferfolge gehabt hätten, so ist er der Ansicht, daß diese Spirochäten erster Generation ihre Virulenz der Anwesenheit von Gewebstückchen zu verdanken hatten, ein Gedanke, in dem ihn seine eigenen Versuche bestätigen. Aus demselben Grunde, so meint er, wären wohl auch die Versuche von Mühlens und Marinestabsarzt Hoffmann mißglückt, die mit ihren Reinkulturen nicht Tierpathogenität erzielen konnten.

Ihm selber jedoch ist es mittlerweile gelungen, Reinkulturen von Pallida zu erzielen und diese auf Kaninchen erfolgreich zu verimpfen. Er verwirft die von den anderen Autoren angegebenen Kulturmedien als ungeeignet und gibt selber folgendes Züchtungsverfahren an. Ein Teil Serum wird mit drei Teilen Wasser gemischt und dieser Mischung ein großes Stück Kaninchenleber oder -hoden zugesetzt. Nachdem nun das Röhrchen mit sterilem, flüssigem Paraffinöl überschichtet worden ist, wird es mit Material aus syphilitischen Kaninchenhoden beschickt und durch Durchleiten von Wasserstoff vom Sauerstoff befreit. (Kippscher Apparat.) Jetzt kommt das Röhrchen in einen anaërobischen Apparat, in dem sich eine starke Pyrogallolsäurelösung befindet. Der Apparat wird hierauf geschlossen und nach genügender Ansaugung (Vacuum) wird eine konzentrierte sauerstoffreie Kalilosung zugesetzt. Nochmals wird sodann Wasserstoff durchgeleitet; dann aber wird er unter negativem Druck geschlossen und in den Brutofen gestellt. Durch dieses Verfahren gewinnt er zunächst Mischkulturen: aus diesen heraus züchtet er sodann Reinkulturen, indem er erstere entweder öfters durch Berkefeldfilter

schickt, oder aber, wenn er doch in festem Serum-Agar Kulturen anlegte, indem er die reine Spirochäte fern von dem verunreinigten Stichkanal abfing, was Hoffmann bereits angegeben hatte. Mit diesen reinen Stämmen nun hat er bei fünf Kaninchen Syphilis erzeugt. Zum Schlusse seiner Arbeit legt er die Unterschiede zwischen seinen Kulturen und den von Mühlens und Hoffmann fest: Seine Spirochäten wachsen nicht ohne den Zusatz von Gewebestücken, und riechen nicht; die Spirochätenkulturen jener beiden Autoren hingegen wachsen ohne Gewebestückchen und verbreiten einen starkstinkenden Geruch.

Schon einige Wochen darauf veröffentlicht Marinestabsarzt Hoffmann[17]) zwei Fälle von experimenteller Kaninchensyphilis, hervorgerufen durch die oben erwähnte Reinkultur aus menschlichem Schanker. Wie er in der letzten Arbeit gezeigt hatte, waren auch ihm Reinkulturen nach Mühlens geglückt. Er verrieb nun das spirochätenhaltige Pferdeserum in Bouillon und spritzte es den Kaninchen direkt in die Testes. Zunächst trat eine stark entzündliche Hodenschwellung auf, die sich allerdings bald zurückbildete, bis auf einige harte Knoten, die zurückblieben. Nach sieben Wochen begannen diese Kaninchen sichtlich abzumagern, wurden schwächer und bekamen spezifischen Haarausfall. Bei dem Schlachten derselben fanden sich in den Testes reichliche Spirochäten, von denen aus er wieder Kulturen in Pferdeserum mit Erfolg anlegte; auch verimpfte er sie weiter auf Kaninchen.

Die nächste Arbeit auf diesem Gebiet ist die Arbeit Grouvens[18]). Er stellte sich aus der Sowadischen

[17]) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1911 Seite 1546.
[18]) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1911 Seite 1647.

Mischkultur Vakzine her und suchte damit syphilitische und gesunde Kaninchen zu beeinflussen. Während die gesunden Tiere nie auf die Einspritzungen reagierten, konnte er bei zwei erkrankten Tieren Temperatursteigerung und Lokalreaktion beobachten. Auch brachte er bei beiden Kaninchen die äußeren Krankheitserscheinungen zum Schwinden, wenngleich in dem einen Falle bald wieder ein Recidiv auftrat.

Eine weitere Arbeit Sowades[19]) berichtet abermals über Impferfolge mit Mischkulturen. Zunächst beobachtete er das früher bereits beschriebene Kaninchen weiter. Wenige Wochen nach seiner letzten Arbeit bekam dieses Kaninchen ein Recidiv, an dem es zurzeit noch krankt. Während der ganzen Krankheitszeit ist das Kaninchen noch mehrmals trächtig gewesen, hatte aber stets nur tote Junge zur Welt gebracht. Bei einer Reihe anderer Kaninchen nun impfte Sowade seine Mischkulturen nicht mehr intrakardial, da ihm dabei bereits zu viele Kaninchen eingegangen waren, sondern intravenös, in die Vena cava inferior mit dem Erfolge, daß er nun bei fünf weiteren Kaninchen fast alle Formen der menschlichen Syphilis zu Gesicht bekam: Papeln, Haarausfall, tiefe Ulcera, selbst eine Iritis. Die Wassermannsche Reaktion gab ihm bei seinen Tierversuchen das Resultat, daß einzelne kranke Kaninchen positiv reagierten, während die gesunden stets negativ waren.

Von weiteren Erfolgen mit Spirochätenkulturen berichtet Noguchi in seiner nächsten Arbeit[20]). Er hat sich aus seinen Kulturen eine abgetötete Lösung, Luetin genannt, hergestellt, die er auf Gesunde und Kranke analog der Pirquetschen Hautreaktion bei Tuberkulose verimpft. Bei diesen seinen Versuchen

19) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1911 Seite 1934.
20) Münchner Medizinische Wochenschrift 1911 Seite 2372.

nun konnte er folgende Beobachtungen machen: Nie erzielte er mit seiner Impfung ein positives Resultat bei gesunden und nicht syphilitisch erkrankten Individuen. Anders indessen bei Syphilitikern; zwar reagierten auch hier die Fälle des primären und sekundären Stadiums ganz vereinzelt positiv; bei manifester tertiär Syphilis aber, bei hereditär- und latenter Spätsyphilis hat er fast regelmäßig eine positive Reaktion. Weniger günstig waren seine Resultate bei Lues cerebero-spinalis und Metalues. Auf Grund dieser seiner Beobachtungen kommt er zu dem Resultat, daß die Luetinreaktion eine für Syphilis spezifische sei und ein besonders wertvolles diagnostisches Hilfsmittel neben der Wassermannschen Reaktion im späteren Stadium der Lues biete.

Levaditi und Danulesco prüfen Noguchi nach und versuchen die Pallida auf seine Art aus Menschen- und Kaninchensyphilis zu züchten; es gelingt ihnen dieses niemals. Sodann untersuchen sie eine von Noguchi stammende Pallidakultur und finden dabei morphologische und biologische Unterschiede gegenüber der Gewebepallida. Auch war die Spirochäte aus dieser Kultur weder für Affen noch für Meerschweinchen pathogen.

Ebenfalls mit einer Nachprüfung der Noguchischen Versuche, der Luetinreaktion, befaßt sich eine Arbeit von Nobl und Fuchs[21]). Sie haben ihre Beobachtungen nur an 100 Fällen gemacht und wollen daher noch nicht ein endgültiges Urteil über die Spezifität der Luetinreaktion fällen, sondern erst weitere Versuche abwarten. Doch warnen sie bei der Ablesung der Hautreaktion schon jetzt vor naheliegenden Fehlern: Zunächst soll man die Reaktion nicht vor dem

[21]) Wiener Klinische Wochenschrift 1912 Nr. 13.

achten Tage ablesen; da innerhalb dieser Tage die Kontrollflüssigkeit sehr häufig ebenso reagiert, wie der eigentliche Versuch. Eine weitere Gefahr bei der Beurteilung der Reaktion liege sodann darin, daß bei der Entscheidung über positiven oder negativen Ausfall der Reaktion der subjektiven Ansicht des einzelnen der weiteste Spielraum gelassen werde. Nicht konnten sie im Gegensatz zu Noguchi beobachten, daß Luetiker mit intensiver Quecksilberbehandlung häufiger positiv reagierten; auch nicht, daß Patienten mit Salvarsanbehandlung besonders intensiv reagierten.

Eine wesentliche Verbesserung an dem Kulturverfahren der Spirochäta pallida veröffentlicht zu Anfang des Jahres 1912 S o w a d a. Er arbeitet mit dem Schereschewskischen reinen Pferdeserum, das er drei Tage hindurch je zwei Stunden bei 58° sterilisiert. Am Schlusse dieser Sterilisation erhöht er die Temperatur soweit, bis das Pferdeserum gelatinös erstarrt. Hierbei darf man jedoch mit der Temperatur nicht zu schnell hoch gehen, da sonst der ganze Nährboden getrübt und dadurch die Beobachtung der Spirochätenkulturen erschwert wird. Für das Wachstum der Spirochäten allerdings ist eine solche Trübung von keiner Bedeutung. Die Stelle, von der er sein Ausgangsmaterial hernahm, desinfizierte er vorher mit Sublimat- und Alkoholumschlägen. Das entnommene Gewebe, für gewöhnlich Kondylom- und Papelnstücke, zerquetscht er vor der Beimpfung mit einem Pean und versenkt es dann in kleinen Partikelchen in den Nährboden, wobei er das Eindringen von Luftblasen gleichzeitig mit dem Impfmaterial vermeidet. Haben sich solche trotzdem in den Nährboden eingeschlichen, so entfernt er sie durch vorsichtiges Aufstoßen mit dem Röhrchen. Die so angelegten Kulturen stellt er fünf Tage in den Brutschrank bis die Kultur sich zu verflüssigen beginnt. Von jetzt geht er weiter nach einer

Modifikation des zuerst von Hoffmann aufgefangenen Gedankens vor, daß nämlich die Spirochäte schneller als die übrigen Bakterien in den Nährboden wachse. Er gießt am fünften Tage die Verflüssigung von der Kultur ab, und füllt den ganzen Stichkanal mit 70prozentigem Alkohol an, den er 10 Minuten lang auf dem Kulturboden läßt. Hierdurch desinfiziert er die ganze Umgebung rings um den Stichkanal. Nach Abgießen des Alkohols und Nachspülen mit sterilem Wasser wird der Stichkanal, um wieder anaërobe Bedingungen herzustellen, mit sterilem Paraffinöl gefüllt. Wenn das Verfahren gelungen ist, tritt weitere Verflüssigung des Nährbodens nicht mehr ein. Hierdurch sind alle anderen Keime abgetötet, die Pallida aber, die vom Stichkanal aus kraft ihrer eigenen Bewegung in die weitere Umgebung des Stichkanals gedrungen ist, wird bei diesem Vorgehen durch den Alkohol nicht abgetötet und entwickelt sich weiter. Es entstehen dadurch im Agar weißlich wolkige Trübungen, welche den Nährboden fast in seiner ganzen Dicke durchsetzen. Sobald etwa am zehnten Tage diese wolkige Trübung deutlich in Erscheinung tritt, wird das Röhrchen mittels einer Feile zersägt, der Nährboden ausgeschüttet, in Scheiben zerschnitten, die Scheiben untersucht, ob sich dort reine Pallida finden und, wenn dieses der Fall ist, auf andere Röhrchen weiter verimpft. Die neuen Röhrchen werden gleichfalls mit Paraffinöl überschichtet und mit Watte oder Gummipfropfen verschlossen.

Auf diese Weise gelang es Sowade, zwei reine Stämme zu erzielen; vier weitere Stämme waren bei der Veröffentlichung dieser Arbeit fast rein. In der Reinkultur waren die Spirochäten geruchlos und verflüssigten nicht den Nährboden. Die Weiterverimpfung der reinen Kulturen gestaltete sich sehr schwierig, da sie oft nicht

angingen; er empfahl daher bei Weiterverimpfungen möglichst viele Röhrchen zu beschicken.

Weitere Erfolge mit Spirochätenkulturen[22]) veröffentlicht noch im April desselben Jahres Tomaszczewski. Er prüft zunächst die früheren Resultate nach, und kommt dabei dazu, die Noguchische Methode als zu kompliziert zu verwerfen, viel einfacher und zu einem besseren Resultate führt das Schereschewskische Verfahren, das er daher bei seinen Kulturversuchen innehielt. Er erhielt damit anfangs 1912 eine Mischkultur, die er bis jetzt weiter verimpfte; eine Reinkultur glückte ihm noch nicht. Neu bei seiner Methode ist das, daß er acht Röhrchen hintereinander mit derselben Öse beimpfte, und auf diese Weise bei schwächerer Beimpfung in den letzten Gläschen, und hier besonders in den unteren Partien, reinere Kulturen erhielt. Der Nährboden war bei diesem Verfahren fest und roch nicht.

Tierpathogenität hat auch Tomasczewski bereits mit seinen Mischkulturen erzielt. Er impfte ein Kaninchen intravenös, und rief damit am ganzen Körper Papeln hervor, die im Dunkelfeld zahlreiche Spirochäten aufwiesen.

In demselben Monat erscheint in der Deutschen Medizinischen Wochenschrift eine neue Arbeit von Arnheim[23]), in der dieser versucht, gleich von vornherein Reinkulturen zu gewinnen, dadurch, daß er schon bei der Entnahme des Materials ganz steril vorgeht. Er wählt sich dazu möglichst weit von der Vagina gelegene Papeln und Condylome aus und desinfiziert das Operationsgebiet sehr sorgfältig. Dann entnimmt er mit sterilen Instrumenten ein Gewebsstückchen, glüht es an der Oberfläche mit heißem

22) Berliner Klinische Wochenschrift 1912 Nr. 17.
23) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1912 Seite 934.

Skalpell ab, und bringt es sofort in ein Schälchen mit Bouillon. Nachdem er sich im Dunkelfeld überzeugt hat, daß das gewonnene Stückchen reichlich Spirochäten enthält, schabt er es auf der Innenseite mit einem feinen Messerchen, und bringt mit einer Platinöse einen Teil des Geschabes in ein noch flüssiges Serum-Agar-Röhrchen bei 42 Grad. Von diesem Serum-Agar-Röhrchen nun legte er 16 Verdünnungen an. Unbrauchbar für seine Kulturzwecke ist Material, das durch Fluor oder Gonorrhoe verunreinigt war. In 22 Fällen erhielt er bei diesen Versuchen dreizehnmal Spirochätenkulturen, in sieben Fällen isolierte Kolonien. Sämtliche dieser isolierten Kolonien rochen stark und waren mit anderen Mikroorganismen gemischt. Von den Rändern dieser isolierten Kolonien impfte er nach Hoffmann auf feste Serum-Agar-Röhrchen; indes konnte auch er beobachten, daß, je reiner die Kultur wurde, desto schwieriger sich die Überimpfung gestaltete. Mitunter gingen von 80 Kulturen nur einzelne an. Bessere Resultate erzielte er, wenn er ein steriles Stückchen von frischem Kaninchengewebe hinzupflanzte. Auch schien es ihm, als ob auf Serum-Bouillon selbst bei nur schwachen Verunreinigungen die Spirochäten besser gediehen wie auf Serum-Agar. In ersterem Kulturboden zeigte sich auffallend eine Agglomeration der Spirochäten, die er sich so erklärte, daß sich die Spirochäten dicht um einen kleinen Kern anderer Bakterien drängen.

Mit seiner Methode ist ihm bis jetzt ein reiner Stamm gelungen, den er schon bis zur sechsten Generation fortgepflanzt hat, sowohl auf Serum-Agar wie auf Serum-Bouillon. Seine Reinkulturen riechen absolut nicht, weder auf dem festen, noch auf dem flüssigen Nährboden.

Tierversuche hat auch er schon gemacht, will sie aber erst später veröffentlichen.

Eine Arbeit von K ä m m e r e r[24]), die um dieselbe Zeit erscheint, befaßt sich lediglich mit der Noguchischen Luetin-Reaktion und kommt im Gegensatz zu Nobl und Fuchs zu demselben Resultat wie Noguchi.

Ein eigenes Kulturverfahren bei Spirochäten hat N a k a n o, der mit Filterkulturen[25]) arbeitet, wie es N o g u c h i auch schon erwähnt hatte. Unabhängig von diesem machte er sich den Gedanken von Breint, Kingborn und Todd zunutze, daß nämlich die Spirochäte pallida schneller einen Filter durchwandere, als die übrigen Bakterien. Er geht von einer Mischkultur in Pferdeserum aus, und benutzte als Impfmaterial Lymphdrüsenflüssigkeit von Kaninchen und Menschen. Hatte er eine Mischkultur erhalten, so geht er nun folgendermaßen vor: Er nimmt einen weiten, unten geschlossenen Zylinder, verschließt ihn mit einem Gummipfropfen, der eine Öffnung hat. Den Zylinder füllt er jetzt mit Pferdeserum und führt in denselben durch die Öffnung des Gummipfropfens einen Berkefeldfilter ein, gleichfalls gefüllt mit Pferdeserum, und oben auch mit einem Pfropfen verschlossen. Diesen ganzen Filterapparat nun bringt er drei Tage nacheinander je vier Stunden in den Brutofen bei 58°, und am vierten Tage noch 30 Minuten in ein Wasserbad von 65°, so daß das Serum erstarrt. Nachdem er so seinen Apparat mit Pferdeserum nochmals sterilisiert hat, läßt er ihn 24 Stunden bei 37° bebrüten. Jetzt beschickt er den Filter angefüllt mit Pferdeserum mit seiner Mischkultur, und schon nach drei Tagen kann er beobachten, wie an der Außenseite des Filters reine Spirochätenkolonien zum Vorschein kommen. Er nimmt sodann den Filter heraus und impft die reinen Kolonien auf Pferdeserum weiter. Auf diese Weise

[24]) Münchner Medizinische Wochenschrift 1912 Nr. 28.
[25]) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1912 Seite 1333.

gelang es ihm bis jetzt zwölf reine Stämme zu erzielen, anfangs erst in dritter Generation, später auch in der zweiten und ersten. Seine sämtlichen Reinkulturen waren geruchlos und ohne Verflüssigung.

Bei seinen Tierversuchen hatte auch er zum Teil positive Resultate. Er impfte 17mal mit Mischkulturen in die Testes von Kaninchen und erzeugte einmal Hodensyphilis. Von drei Impfungen mit Reinkultur hatte er gleichfalls einen positiven Erfolg.

Zugleich mit der Arbeit Nakanos erscheint eine neue Veröffentlichung Scherescheweskis[26]), die eine kurze Übersicht über all das bringt, was bis dahin auf dem Gebiete der Spirochätenkultur erreicht ist.

Mittlerweile ist es Tomaszczewski[27]) gelungen, mit einer Modifikation des Pferdeserumverfahrens auch Reinkulturen zu erzielen. Tomasczewski legt in seiner Arbeit Wert darauf, in der Mitte des Nährbodens zu impfen, nicht an der Seite der Glaswand, wie es sämtliche Autoren vor ihm getan hatten. An der Glaswand nämlich sagt er, dringen die anderen Bakterien ebenso schnell in die Tiefe, wie die Spirochäten. Drei bis vier Tage, nachdem er das Pferdeserum beschickt hatte, bildete sich um das Impfmaterial eine hauchige Trübung, die nach unten hin 2 bis 3 Zentimeter reichte. Unterhalb dieser hauchigen Trübung nun schnitt er ab, und fand auch in dem ganz klaren Nährboden reichliche Spirochäten, die absolut rein waren, und die er nun weiter verimpfte. Zu diesem Zwecke verrieb er einen Teil dieses spirochätenhaltigen Nährbodens in Bouillon und bringt davon ein kleines Tröpfchen mittels eines sehr dünnen Kapillarröhrchen auf den Grund eines Serum-Agarröhrchens.

[26]) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1912 Seite 1335.
[27]) Berliner Klinische Wochenschrift 1912 Nr. 33.

Schon nach einigen Tagen wächst eine hauchige Kolonie von reiner Pallida von unten auf in die Höhe, und so gelang es ihm auch Reinkulturen auf Serum-Agar zu gewinnen, was bis dahin vergebens versucht war; in Serum-Bouillon konnte er sie nie rein züchten, dort wuchsen sie nur zusammen mit einem Begleitbakterium. Seine Reinkulturen rochen nicht, auch verflüssigten sie nicht den Nährboden.

Das morphologische Aussehen dieser seiner reinen Spirochäte beschreibt er in der üblichen Weise. Wenig Glück hatte er bis jetzt mit der Tierpathogenität. Von 34 geimpften Kaninchen erkrankte nur eins, welches, wie er früher schon gesagt hat, mit Mischkultur geimpft war. Mit fünf Versuchen von Reinkulturen erzielte er bis jetzt keine Tierpathogenität.

Gegen Ende desselben Jahres nun erscheint die bereits erwähnte Arbeit Noguchis[28]) in ausführlicher und erweiterter Form, in der dieser sein Kulturverfahren, mit dem es ihm gelungen sei, Reinkulturen zu erzielen, schildert. Zunächst prüfte er die Kulturverfahren von Mühlens und Hoffmann nach, und kommt dann auf die eigenen Versuche zu sprechen.

Er hat zwei verschiedene Methoden, die Pallida zu züchten, je nachdem er mehr reines oder verunreinigtes Ausgangsmaterial verwendet.

I. Eine Methode für reines Ausgangsmaterial. Hierbei wendete er als Nährboden Serumwasser an (einen Teil Serum plus drei Teile Wasser). Er füllt damit 1,5 cm weite Reagensgläschen bis auf 15 cm Höhe an und überschichtet Paraffinöl, dann leitet er mit dem Kippschen Apparat Wasserstoff durch das

28) Berliner Klinische Wochenschrift 1912 Seite 1554.

Serumwasser, um ihm den Sauerstoff zu entziehen. Der auf diese Weise sauerstoffarme Nährboden kommt in einen anaërobischen Apparat, in welchem sich eine starke Pyrogallollösung befindet; der Apparat wird geschlossen und nach genügender Ansaugung wird eine konzentrierte sauerstoffreie Kalilösung zugesetzt, dann abermals Wasserstoff zugeleitet, unter negativem Druck geschlossen und zwei Wochen bei 37 Grad gebrütet.

II. Eine andere Methode für stark verunreinigtes Gewebe aus Menschenmaterial. Hierzu nimmt er einen Nährboden aus einem Teil Ascitesflüssigkeit und zwei Teilen leicht alkalischem Agar, dem er zur völligen Absortion des Sauerstoffes noch ein Stückchen frisches Gewebe zusetzt. Bei diesem Verfahren nun erzielte er auf jede der beiden Arten je sechs Stämme, dabei erwähnte er, daß er bei menschlichem Ausgangsmaterial niemals aus der Mundhöhle abimpfte, um Verwechslungen mit den Mundspirochäten zu vermeiden. Zwei von den sechs Stämmen erster Gattung gelang es ihm r e i n zu züchten. Die von ihm gezüchteten Spirochäten schilderte er folgendermaßen: Sie waren in der Kultur morphologisch genau dieselben wie die Gewebepallida und wuchsen nur, wenn ein frisches Gewebsstück dem Nährboden zugesetzt wurde. Sie sind geruchlos und wachsen, sofern sie von Kaninchensyphilis herstammen, hauptsächlich auf Kaninchenserum. Mit diesen Spirochäten erzielte er in Misch- wie in R e i n k u l t u r experimentelle Kaninchen- und Affensyphilis, in deren Krankheitsprodukte er sowohl im Dunkelfeld wie nach Lewaditi typische Pallida nachweisen konnte. Bei den mit Reinkultur geimpften Kaninchen erzielte er positiven Wassermann. Diese Versuche mit der Wassermannschen Reaktion führte er näher aus. Zunächst nahm er zwei Emulsionen, eine hergestellt aus Gewebepallida, die andere aus Kulturpallida. Mit beiden

wurden Kaninchen sechs Monate hindurch behandelt. Das Serum der Kaninchen nun, die mit Gewebepallida-Emulsion behandelt worden waren, fixiertem Kompliment sowohl bei Verwendung von Antigen aus Kulturen als auch bei solchem aus syphilitischem Gewebe. Genau das gleiche war der Fall bei dem Serum von Kaninchen, die mit Reinkultur-Emulsion behandelt waren. Keine Komplementhemmung trat dagegen ein, wenn Extrakt aus anderen Spirochäten verwandt worden war.

Ferner impfte Noguchi Kaninchen, die mit Gewebepallida-Emulsion mehrere Monate hindurch behandelt waren, intradermal mit Gewebepallida, und erzielte dabei eine entzündliche Hautreaktion. Ein normales Kaninchen und ein Kaninchen, das an einer Orchitis luetica erkrankt war, reagierten in keiner Weise. Genau die gleichen Resultate hatte er zu verzeichnen, wenn er an Stelle der Gewebepallida Kulturpallida zur intradermalen Einimpfung verwandte. Diese Reaktion erhielt er nicht, wenn er an Stelle der Pallida andere Spirochätenarten intradermal impfte.

Weiter impfte er nun Menschen mit Pallida-Kulturextrakt und bekam fast ständig ausgesprochene Hautreaktion bei tertiärer Lues und bei Lues hereditara. Selten hingegen erzielte er kutane Reaktion bei sekundärer und primärer Syphilis. Bei nicht luetischen Individuen fielen die Versuche stets negativ aus.

An Hand der vorliegenden Literatur führte auch ich an der Poliklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten (Leiter Professor Dr. Scholtz) eine Reihe von Kulturversuchen mit Spirochäten aus. Leider hatten diese nicht den Erfolg, den ich erhofft hatte; einmal konnte ich aus äußeren Gründen meine Versuche nicht

so breit anlegen, wie das die meisten anderen Autoren gemacht hatten und dann mußte ich vor allen Dingen meine Versuche bereits im Frühjahr 1913 abbrechen, als einige Erfolge und bessere Handhabung der Technik neue Aussichten eröffneten. Was ich bei meinen Versuchen fand, will ich kurz wiedergeben.

Im ganzen legte ich ca. 220 verschiedene Kulturen an; seien es Ausgangskulturen, seien es Überimpfungen. Als Kulturboden benutzte ich fast ausschließlich steriles erstarrtes Pferdeserum, obwohl ich auch mit anderen Kulturmedien eine Reihe von Versuchen machte. Diese anderen Nährboden waren Serum-Agar, Serum-Bouillon, reine Bouillon und reiner Agar.

Besonderen Wert legte ich anfangs im Anschluß an die Arbeit von Scholtz über „das Wachstum anaërober Bakterien bei Luftzutritt" auf Züchtung der Spirochäten, zusammen mit bestimmten aëroben Keimen. Um die Spirochäten aber aus der Mischkultur eventuell rein zu gewinnen oder wenigstens das Wachstum derselben recht genau verfolgen zu können, benutzte ich als Zusatzbakterium größtenteils Tuberkelbazillen. Diese wachsen bekanntlich in Bouillon nur auf der Oberfläche in festen Krümeln ohne den Nährboden diffus zu trüben. Es war nun möglich, ja wahrscheinlich, daß die Spirochäten sich wenigstens um die Tuberkelkultur-Konglomerate entwickeln und von hier aus in die Bouillon gelangen und sich dort verteilen würden, vielleicht auch sich in der Bouillon selbst weiter entwickeln würden. Man hätte sie dann aus der von Tuberkelbazillen freien Bouillon leicht rein gewinnen können. Mindestens aber hoffte ich, das Wachstum der Spirochäten um die Tuberkelbazillen-Konglomerate herum besonders gut verfolgen zu können, wie das Scholtz seinerzeit auch bei anderen anaëroben (Tetanus, Malignes Oedem) möglich war. Ich setzte also etwa linsengroße Krümel der Tuberkelbazillenkultur der

Serum-Bouillon, zum Teil auch anderen festen Serum-Nährboden zu, nachdem ich ihn vorher mit steril entnommenen Condylomstücken, mit Papeln und schließlich auch mit sterilem venösen Blut beschickt hatte. Leider hatten diese Versuche insgesamt keinen Erfolg; ich glaube hauptsächlich deswegen, weil ich nicht die nötige Ausdauer bei diesen Versuchen hatte, sondern, da mir verhältnismäßig leicht eine Mischkultur auf Pferdeserum gelang, mein ganzes Augenmerk darauf verwandte, aus diesen Mischkulturen Reinkulturen zu erzielen.

Bei diesen meinen Versuchen auf Pferdeserum ging ich folgendermaßen vor: Das Blut gewann ich durch Venenpunktion an Versuchspferden, die mir das hiesige Tierärztliche Institut hierzu in liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte. Einige Male gewann ich auch Blut bei Schlachtungen auf dem hiesigen Schlachthofe. Von diesem Blute erzielte ich jedoch nur die Hälfte Serum, wie von dem durch Punktion gewonnenen. Ob dieses an den Tieren selber lag, hier waren es junge Füllen, dort alte abgetriebene Tiere, oder ob die Art der Gewinnung daran schuld war, kann ich nicht angeben. Das Serum wurde nach der Methode von Sowade zubereitet. Nachdem das Blut gut abgestanden war, wurde das Serum in einen Meßzylinder mit Gummischlauch, wie wir ihn zur Salvarsan-Injektionen benutzen, gegossen und von hier aus in Reagenzgläser abgezapft. So erspart man das zeitraubende und unpraktische Apipettieren. Die Gläschen werden mit Wattestopfen verschlossen, und drei Tage nacheinander je zwei Stunden in einem Wasserbade von 58° sterilisiert. Am dritten Tage erhöht man die Temperatur des Wasserbades soweit, bis das Serum gallertartig erstarrt, je nachdem man dabei schneller oder langsamer vorgeht, ist das Serum bald trüber, bald klarer. Hierauf kommt das Serum bis zur

Beimpfung wieder in den Eisschrank. In letzter Zeit allerdings stellte ich die Reagenzgläschen vor der Beschickung noch ein oder mehrere Tage in den Brutschrank bei 37°, und erzielte damit bessere Resultate.

Als Ausgangsmaterial für meine Kulturen verwandte ich Primäraffekte, Papeln, Condylome, Plaques, Blut und schließlich auch Saft punktierter Drüsen. Mit letzteren beiden, mit Blut und Lymphdrüsensaft, gelangen mir allerdings nie Kulturen, obwohl ich bei der Lymphflüssigkeit jedesmal vor der Verimpfung im Dunkelfeld die Anwesenheit von Spirochäten feststellen konnte. Ich verwandte mehrere Male auch gerade diese Lymphflüssigkeit als Ausgangsmaterial, weil einige Autoren angegeben haben, daß man die Spirochäte in der geschwollenen Lymphdrüse fast ganz rein vorfindet.

Hatten die Kulturen mit diesem Ausgangsmaterial nie Erfolg, so gelangen sie um so häufiger, ich kann sagen, in letzter Zeit fast stets, wenn ich Condylome, Primäraffekte und Plaques, letztere wegen der Gefahr der Verwechslung mit Mundspirochäten nur einmal, als Ausgangsmaterial gebrauchte. Dieses Ausgangsmaterial wurde nach den von Sowade und Arnheim angegebenen Methoden möglichst steril entnommen. Die Gewebsstückchen zerquetschte ich anfangs, wie Sowade es verlangt, später unterließ ich dieses mit demselben oder vielmehr noch besseren Erfolge.

Die Kulturen wuchsen für gewöhnlich so, daß ich am fünften bis sechsten Tage bereits reichliche Spirochäten vorfand, mitunter schon früher, mitunter auch später. Untersuchte ich ganz früh, vielleicht am zweiten Tage, so fand ich nur einzelne unregelmäßige Exemplare, von denen ich nicht sagen konnte, sind es schon neue Spirochäten, oder sind es die alten verimpften. Gleichzeitig mit dem Wachstum der Spirochäten be-

gann um den Stichkanal eine wolkig hauchige Trübung, die von Tag zu Tag zunahm, und ca. nach 15 Tagen den ganzen Nährboden überzog. Der Trübung auf dem Fuße folgte eine Verflüssigung nach, die gleichfalls allmählich den ganzen Nährboden auflöste. Begleitet waren diese Vorgänge gewöhnlich von einem intensiven Gestank, der allerdings mitunter wenig vorhanden war, ich will nicht sagen, ganz fehlte. Ich konnte gerade bemerken, wie besonders bei mehr reinen Kulturen Gestank und Verflüssigung nur wenig vorhanden waren. Besonders fiel mir dieses auf an einer Kultur, die bei der ersten Untersuchung so zahllose Spirochäten und so wenig andere Bakterien aufwies, daß ich im Anfang glaubte, ich hätte eine Reinkultur vor mir. Ich konnte kaum etwas von Verflüssigung und Gestank bemerken, und doch war die Kultur schon bei dieser Untersuchung neun Tage alt, ein Alter, bei dem diese beiden Faktoren für gewöhnlich schon sehr stark ausgeprägt sind. Erst als ich die Kultur mehrmals untersucht hatte, fing sie an sich zu verflüssigen und zu stinken, gleichzeitig aber war sie auch viel stärker verunreinigt.

Dieser Gestank, den die Mischkulturen also stets an sich haben, wurde sofort intensiver und eigenartiger, wenn man Alkohol und Paraffinöl auf die Kulturen nach dem Sowadeschen Reinkulturverfahren goß, ohne daß man dabei ein Aufhören der Verflüssigung, also eine Desinfektion im Sinne Sowades erzielte.

Bei älteren Kulturen lagen die Verhältnisse gewöhnlich so, daß ich oben in der Verflüssigung nur einige tote Spirochäten fand, die stark deformiert waren. In der nächsten Umgebung des oberen Stichkanals war kaum eine Spirochäte zu sehen, aber unten im Stichkanal, und vor allem in der unteren Umgebung desselben, fand man noch reichlich gut erhaltene Spirochäten vor. Lebende Spirochäten konnte ich noch un-

gefähr nach 25 Tagen in der Kultur beobachten und weiter verimpfen, tote und rudimentäre fanden sich noch nach 5 Monaten in einigen Kulturen vor.

Nicht ganz ohne Einfluß schien es mir auch auf das Wachstum der Spirochäten zu sein, ob der Nährboden getrübt oder klarer war, zumal damit Hand in Hand geht die Härte des Kulturbodens. Als nämlich zufällig eine Serie von ca. sechs Serumröhrchen ganz hart geraten waren, sie waren über 80° erwärmt worden, konnte man beobachten, daß sich die Kulturen viel langsamer ausbreiteten und verflüssigten. Ja mitunter die Verflüssigung und Trübung nicht über die nächste Umgebung des Stichkanals heraus kam, und doch waren in diesen Kulturen selten zahlreiche Spirochäten im Anfange. Die Untersuchung im Dunkelfeld zeigte mir, daß, während sonst schon am vierten Tage die Spirochäten auf der gegenüberliegenden Glaswand angelangt sind, sie hier erst viel später oder überhaupt nicht ankamen.

Was nun das Aussehen der Kulturspirochäte anbelangt, so halte ich es für unmöglich, daß man mit ihm allein zu einem Resultate bei der Identifizierung von Gewebe- und Kulturspirochäte kommen kann. Gewiß konnte auch ich beobachten, daß meine Kulturen zahllose Spirochäten vom Pallidatyp bargen. Aber mit ihr zusammen enthielten sie auch hiervon abweichende Formen; bald waren sie etwas unregelmäßiger geformt, bald kürzer, bald dicker und plumper als die Spirochäte pallida. Ihr Bild ändert sich eigentlich von Tag zu Tag, je älter die Kultur wurde, je weniger Leben sich zeigte, um so mehr waren die Spirochäten deformiert, und doch hatten dieselben Kulturen früher reichliche und schöne Exemplare von Pallida gezeigt.

Öfters sah ich in den Kulturen auch Gebilde, die aussahen wie eine Kette von ca. acht Gliedern. Als ich

nun eine solche Kette ca. eine Viertelstunde im Dunkelfeld im Auge behielt, fing sie sich an auf dem einen Ende auseinanderzuflechten, wie wenn ein Zopf aufgeflochten wird. Erst löste sich ein Glied, dann ein zweites, bis schließlich nach geraumer Zeit sich das ganze als zwei Spirochäten auseinanderlöste. In derselben Kultur sah ich auch reichlich kurze Fäden, die die Länge und Dicke der Pallida hatten, aber ohne Windung waren. Wenn man diese so am Rande des Nährbodens zwischen reichlichen Spirochäten in die dunklen Spaltenräume hineinragen sah, gleich wie jene zappelnd, um sich von dem Nährboden loszureißen, so konnte man sich des Eindrucks nicht verwehren, daß diese Fäden in irgend einem Zusammenhange mit den Spirochäten ständen. Schon gleich zu Anfang hatte ich diese Schlangen in einigen Kulturen beobachtet, als ich sie nach Giemsa färbte, bekam ich, wie bei der Spirochäte pallida eine blaßrosa Färbung.

Im Farbenpräparat nach Giemsa zeigten meine verschiedenen Spirochätenstämme, soweit ich sie gefärbt habe, einen blaßrosa Farbenton, indes war in diesen Farbenpräparaten das Aussehen noch unregelmäßiger und ich glaube aus Vergleichen, die ich mit Dunkelfeld- und Farbenpräparat anstellte, behaupten zu dürfen, daß das morphologische Aussehen der Kulturspirochäte im Farbenpräparat nicht unbeträchtlich leide.

Was die Überimpfungen anbelangte, so glückten sie im allgemeinen viel leichter, als die Ausgangskulturen. Obwohl ich im allgemeinen bei dem knappen Material genötigt war, höchstens auf drei bis vier Röhrchen weiterzuimpfen, ging mir nur ein einziger Stamm unbeabsichtigt zugrunde. Dieser allerdings war gerade ein solcher, von dem ich erwartet hatte, eine Reinkultur zu gewinnen, da er nur sehr wenig Beimengung von anderen Bakterien aufwies. Die Weiter-

impfungen nahm ich gewöhnlich am siebenten bis zwölften Tage vor, obwohl mir auch noch spätere Verimpfungen (bis zum 20. Tage) glückten. Daß sich in den ersten Generationen nur Pallida, in den späteren mehr Refringens vorfanden, wie das teilweise in der Literatur behauptet wird, habe ich nie beobachten können. Einige Male impfte ich, nachdem ich das Röhrchen zerschnitten hatte, ganz unten von dem Boden ab, obwohl ich im Dunkelfeld keine Spirochäte bei langem Suchen vorfinden konnte, und doch fanden sich nachher in der neuen Kultur reichliche Spirochäten.

Reinkulturen suchte ich auf dem Wege zu gewinnen, wie ihn Sowade und Tomasczewski zeigen. Es ist mir bis jetzt nicht gelungen, obwohl auch ich eine Reihe von Kulturen zu verzeichnen hatte, die nur sehr schwache Verunreinigungen aufwiesen.

Mit meinen Mischkulturen machte ich an neunzehn Kaninchen Tierversuche, die ich bald in die Testes, bald intravenös, bald in die Nasenschleimhaut und einmal auch in das Zahnfleisch spritzte. Sicher syphilitische Erkrankung habe ich damit nicht hervorzubringen vermocht. Zweimal allerdings erhielt ich Abszesse, in denen ich im Dunkelfeld wie im Farbenpräparat Spirochäten nachweisen konnte. Das erste erkrankte Kaninchen war in die Nasenschleimhaut geimpft worden, nach ca. zehn Tagen wölbte sich über dem rechten Nasenflügel ein Abszeß hervor, der nach und nach im Laufe der nächsten beiden Wochen die ganze Vorderseite des Schädels überzog. Bei dem Punktat entleerte sich ein weißer, stinkender Eiter, in dem ich neben reichlichen anderen Keimen zahlreiche Spirochäten nachweisen konnte. Diese Spirochäten färbten sich einmal ganz leicht mit Methylenblau, hatten aber genau das Aussehen wie Pallida. Als ich dieselben nach einigen Tagen nochmals mit

Methylenblau färben wollte, gelang mir dieses nicht mehr, obwohl sie im Dunkelfeld noch da waren, und ich zu wiederholten Malen die Färbung versuchte. Die Weiterverimpfung der Spirochäte aus diesem Abszeß auf Pferdeserum gelang leicht. Ein Giemsa-Präparat, das ich von diesen Kulturen anfertigte, zeigte den blaßrosa Farbenton. Als das Kaninchen nach ca. vier Wochen eingegangen war, gelang mir noch zwölf Stunden nach dem Tode die Weiterverimpfung.

Das zweite Kaninchen wollte ich intravenös spritzen und hatte dabei aber zunächst die Vene gefehlt und in das Ohr gespritzt. Schon bald nach der Impfung zeigte sich an dem Ohr ein kugelrunder Abszeß mit stinkendem Eiter, in dem ich neben Kokken und Stäbchen lange Zeit noch Pallida nachweisen konnte. Als ich später keine Spirochäten mehr nachweisen konnte, verimpfte ich trotzdem weiter, und erzielte auch von hier gute Mischkulturen. Haarausfall konnte ich bei beiden Kaninchen beobachten, indes sah dieser nicht aus wie ein spezifischer, sondern schien mir mehr durch den Abszeß hervorgerufen zu werden.

Alle anderen Kaninchen, mit Ausnahme von vier zuletzt eingespritzten, gingen ein, zum Teil infolge fehlerhafter Technik, zum Teil, wie ich glaube, infolge der starken Verunreinigung des Impfungsmaterials. Spirochäten jedenfalls habe ich bei diesen Kaninchen in den inneren Organen nie nachweisen können, obwohl ich stets Leber, Lunge, Nieren und Herz darauf im Dunkelfeld untersuchte.

Biologische Versuche habe ich mit meinen Versuchen bis jetzt nicht anstellen können.

Aus den in der Literatur niedergelegten Beobachtungen und meinen eigenen Untersuchungen geht zunächst eine Tatsache klar hervor, daß die Spirochäte

pallida nur streng anaërob wächst, ja sie ist sogar ein sehr anspruchsvoller anaërober Parasit. Alle anaëroben Bakterien pflegen ja bekanntlich in Mischkulturen mit aëroben Mikroorganismen sehr gut zu wachsen, während die Entwicklung in Reinkultur unter den bekannten anaëroben Bedingungen im Kippschen Apparat und hoher Agarschicht in der Regel weniger üppig ist.

Die Spirochäte pallida wächst jedoch nur in Gemeinschaft mit anaëroben Bakterien; aber nicht jeder anaërobe Pilz scheint zur Mischkultur mit der Pallida brauchbar zu sein, sondern es eignen sich dazu offenbar nur einige, wahrscheinlich besonders stark sauerstoffbedürftige Mikroorganismen.

In Reinkultur ohne diese Zusatzbakterien gedeiht dagegen die Pallida offenbar nur sehr schwer und schlecht, und ihre Fortzüchtung in Reinkulturen ohne Zusatzbakterien ist daher nur höchst selten gelungen.

Die Rolle, welche die aëroben Bakterien bei der Entwicklung der anaëroben Mischkulturen spielen, ist bekanntlich darin zu suchen, daß die aëroben dem Nährboden den Sauerstoff so vollständig entziehen, daß nun die anaëroben gut zu gedeihen vermögen. Die Ansicht von Kedrowski, daß die aëroben Ferment absondern, das sich dem Nährboden beimische, und nun den anaëroben das Wachstum auch bei Sauerstoffanwesenheit gestatte, kann besonders durch die Arbeit von Scholtz als widerlegt gelten.

Weiterhin ist es zweifellos, daß koaguliertes Pferdeserum den besten Nährboden für die Pallida darstellt, obwohl sie sich auch mit Pferdeserum-Agar, Ascites-Agar und sonstigem Tierserum-Agar, ja sogar in gewöhnlichem Agar zu entwickeln vermag.

Warum gerade Pferdeserum so besonders geeignet ist, muß vorläufig noch dahingestellt bleiben. Einmal könnte in der Tat die weiche Konsistenz eine

Rolle spielen, die den Spirochäten kraft ihrer eigenen Bewegung eine schnellere Ausbreitung und dadurch Entwicklung gestattet. Ferner scheinen mir in dem Pferdeserum bei dem Anlegen von Mischkulturen ganz besonders gute anaërobe Bedingungen durch die lebhafte Entwicklung von Fäulnisgasen, vielleicht auch durch andere Momente zustandezukommen. Hierauf möchte ich hauptsächlich das gute Wachstum der Pallida im Pferdeserum-Agar bei dem Anlegen von Mischkulturen zurückführen.

Daß fortzüchtbare Reinkulturen der Spirochäte pallida in letzter Zeit erzielt worden sind, ist jetzt absolut sicher, aber ebenso sicher ist, daß die Anlage und Weiterzüchtung von Reinkulturen selten gelingt und noch sehr mühsam ist. Dagegen ist es zweifellos, daß sich die Pallida besonders in koaguliertem Perdeserum in der weiteren Umgebung des von einer Mischkultur ausgefüllten Stichkanals häufig in Reinkultur findet. Wie bereits oben erwähnt, wird das damit erklärt, daß die Pallida durch ihre Eigenbewegung schneller als die Begleitbakterien in den Nährboden einzudringen vermögen, und daher in der weiteren Umgebung der Impfstelle allein zu finden sind. Daß es aber überhaupt in der weiteren Umgebung des Stichkanals zu einer so schönen Entwicklung der Pallida allein kommt, während ihre Fortzüchtung in Reinkultur nur schwer gelingt, dürfte meiner Ansicht nach dadurch zu erklären sein, daß durch das Wachstum der aëroben Keime im Stichkanal und die Entwicklung von Fäulnisgasen dem Nährboden der Sauerstoff in weiterer Umgebung entzogen wird, und daher die Pallida hier relativ gut zu gedeihen vermag.

Für ein rasches und sicheres Wachstum der Pallida ist die Pferdeserummethode, wie sie besonders Schereschewski, Stabsarzt Hoffmann und Sowade ausprobiert und empfohlen haben, die geeignetste und

einfachste, obgleich auch bei diesem Kulturverfahren wie bei allen anderen Reinkulturen Schwierigkeiten machen.

Der Versuch, von vornherein in der Weise Reinkolonien der Pallida zu erzielen, daß man das Impfmaterial nach starker Verdünnung in Pferdeserum-Agar in hoher Schicht mittels der Schüttelmethode verteilt, führt nur äußerst selten zu dem gewünschten Ziel, wie die ausgedehnten Versuche von Mühlens selbst ergeben haben.

Auch ich habe auf diese Weise keine Kulturen zu erzielen vermocht.

Eher scheint schon durch die Verimpfung von syphilitischem Gewebe, welches nur Pallida und keine anderen Keime erhält, von vornherein eine Reinkultur erzielt zu werden. Doch scheint es bei diesem Vorgehen nötig, oder wenigstens vorteilhaft zu sein, ein größeres Gewebsstück zu verimpfen und am besten dem Nährboden außerdem noch frische sterile Gewebsstückchen zuzusetzen, die offenbar etwas ähnlich wie Zusatzbakterien durch Absorption des im Nährboden enthaltenen Sauerstoffs wirken. Mir selbst ist eine derartige Kultur nicht gelungen, doch stand mir das zu solchen Zwecken geeignete Material, syphilitische Hodengewebe des Kaninchens, nicht zur Verfügung.

Daß es sich bei dem Pferdeserum und dergleich gezüchteten Spirochäten tatsächlich um die Pallida handelt, ist durch eine Zahl positiver Impfresultate für die Mischkulturen und in letzter Zeit auch für einige Reinkulturen einwandsfrei bewiesen worden, und auch manche biologische Reaktion (positive Kutanreaktion mit Kulturextrakten bei tertiär Syphilitischen, positiver Ausfall der Wassermannschen Reaktionen im Serum von Tieren, welche mit Pallidakulturen geimpft wurden, und vorher negative Reaktion hatten) sprechen ebenfalls für den spezifischen Charakter der

gezüchteten Spirochäten, wenn diese Reaktion allein auch nicht absolut beweisend sein würden.

Dagegen ist es auf Grund der morphologischen Eigenschaften der gewachsenen Spirochäten allein nicht möglich, dieselben in einwandsfreier Weise als Pallida zu verifizieren, da die Kulturspirochäte nicht unbedeutende Abweichungen von der Pallida im Gewebe zeigen, wovon ich mich selbst immer wieder habe überzeugen können. Es kommen da tatsächlich fast alle Abstufungen zwischen der Pallida und der Refringens vor, so daß es bei der einzelnen Spirochäte häufig ganz unmöglich ist, zu entscheiden, ob man eine Refringens oder eine Pallida vor sich hat.

Ebenso reicht das makroskopische Aussehen der Kultur nicht hin, um sie als Pallidakultur zu verifizieren. Das Aussehen der Kultur ist besonders bei Anlage von Stichkulturen in recht klarem durchsichtigen Pferdeserum zwar recht charakteristisch (hauchartige oder leicht wolkige Trübung des Nährbodens); doch findet sich ein ganz ähnliches Aussehen der Kultur auch bei der Spirochäte dentium, wie Mühlens betont hat. Auch findet man, wie auch ich habe feststellen können, bisweilen derartige hauchige Trübungen in der Umgebung des Stichkanals, ohne daß Spirochäten oder überhaupt Bakterien daselbst nachweisbar sind.

Nachtrag.

Da sich die Drucklegung dieser Arbeit fast um ein Jahr verzögerte, so möchte ich hier kurz noch einige Bemerkungen über die Erfolge, die das letzte Jahr auf dem Gebiete der Spirochätenforschung brachte, hinzufügen. Die Beobachtungen der Autoren bewegen sich hier nach zwei Richtungen hin; einmal befassen sie sich mit der Teilung der Spirochäten, dann aber bringen sie auch klare Beweise dafür, daß die Metalues eine echte Spirochätenerkrankung ist. Die Vermehrung und Teilung der Spirochäten haben besonders die Arbeiten von Nakanō, Halford Roß, Jennings, S R. Moolgavkur, Herbert Henry und Meirowski zum Gegenstand. Nakanō[29]) kommt auf Grund seiner Beobachtungen im Dunkelfelde zu dem Resultat, daß die Spirochäten sich querteilen, während Meirowski[30]) der Ansicht ist, daß sie End- und Seitenknospen treiben, die sich abschnüren und neue Spirochäten bilden. Halford Roß[31]) und seine Mitarbeiter sahen bei Syphilitikern des sekundären Stadiums mit Hilfe einer Agarfärbmethode im Blute intercelluläre Parasiten, die sich zu Spirochäten umwandelten.

---

[29]) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1913 Nr. 2.

[30]) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1913 Seite 2042.

[31]) Auszug Münchner Medizinische Wochenschrift 1913 Seite 734.

Wie diese Autoren die letzte Dunkelheit, die noch über das Wesen der Spirochäten besteht, zu lichten suchen, so klärt die nächste Arbeit Noguchis die letzte und schwerste syphilitische Erkrankung, die Metalues, als eine echte Spirochätenerkrankung auf. Noguchi[32]) konnte nämlich bei 200 Paralytikern 42mal Spirochäten im Gehirn mikroskopisch nachweisen; desgleichen einmal bei 12 Fällen von Tabes. Einmal gelang es ihm sogar, einen Kaninchenhoden mit paralytischem Gehirn als Ausgangsmaterial zu infizieren. Was er zuerst gefunden, bestätigen fast gleichzeitig mit ihm Marie, Levaditi, Bankowski, Versé, O. Marburg, Gerber, Forster und Tomaszewski. Den letzten beiden Autoren[33]) gelang es mit Hilfe der Neisser-Pollackschen Gehirnpunktion bei lebenden Paralytikern Spirochäten im Dunkelfelde nachzuweisen. Erwähnt sei zum Schluß auch noch die Arbeit von H. J. Nickols und W. Hongh[34]), die bei einem Neuro-Recidiv Spirochäten im Liquor cerebrospinalis fanden und erfolgreich auf Kaninchen verimpften.

---

[32]) Münchner Medizinische Wochenschrift 1913 Nr. 14.

[33]) Deutsch-Medizinische Wochenschrift 1913 Nr. 26.

[34]) Auszug Münchner Medizinische Wochenschrift 1913 Seite 1223.

Lebenslauf.

Ich bin geboren am 20. September 1882 zu Noßberg, Kreis Heilsberg. Das Abiturientenexamen bestand ich 1906 in Weilburg a. d. Lahn. Seit Herbst 1906 studierte ich an der Universität zu Königsberg, wo ich 1909 die ärztliche Vorprüfung und 1912 das ärztliche Staatsexamen bestand.